

## **Pengaruh lama gliserolisasi terhadap keberhasilan produksi semen beku Sapi Simmental**

Sudarmanto, Trinil Susilawati dan Nurul Isnaini

Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang  
Jl. Veteran Malang 65145 Jawa Timur

[trinil\\_susilawati@yahoo.com](mailto:trinil_susilawati@yahoo.com)

---

**ABSTRACT:** The purpose of this research was to determine duration effect of different glycerolitation time on the quality and frozen semen production of Simmental bulls in Ungaran Artificial Insemination Center. The materials of the research used four Simmental bulls. The method of the study used experimental laboratory. There were two treatments in the study (P0 = duration of glycerolitation for > 3 hours, P1 = duration of glycerolitation for 15 minutes) and four Simmental bulls. The research parameter included semen volume, pH, concentration of spermatozoa, frozen semen production and post thawing motility from 8 treatments. Data were analyzed using t-test. The quality of fresh semen had average percentage of motility 70% and 2+. The research showed that the frozen semen production during 15 minutes of glycerolitation was better than that of >3 hour duration. Moreover, the motile sperms produced during 15 minutes of glycerolitation was higher than those which produced during >3 hours of glycerolitation.

**Keywords:** motility, glycerolitation, frozen semen

---

### **PENDAHULUAN**

Salah satu permasalahan yang dihadapi dalam bidang peternakan di Indonesia adalah masih rendahnya produktivitas dan mutu genetik ternak terutama pada sapi sehingga upaya pemenuhan kebutuhan daging nasional masih melalui impor sapi dari Australia. Salah satu metode untuk meningkatkan produktivitas ternak lokal Indonesia adalah melalui teknologi pemuliaan dengan cara mengawinkan ternak tersebut dengan ternak unggul impor yang selama ini dikenal dengan program IB atau inseminasi buatan (Hastuti, 2008).

Penggunaan teknik IB berkaitan erat dengan kualitas spermatozoa yang dipengaruhi oleh faktor internal (umur, bangsa dan genetik) dan faktor eksternal (pakan, lingkungan dan pengencer yang

digunakan seperti Andromed, tris kuning telur dan lain-lain). Saat ini program IB yang populer adalah menggunakan semen beku.

Produksi semen beku melalui beberapa tahapan dimana salah satunya adalah tahap pengenceran semen yang bertujuan melindungi semen pada saat pembekuan pada suhu rendah. Masalah yang sering terjadi pada proses pengenceran semen adalah kejutan dingin (*cold shock*) dan kerusakan sel akibat terbentuknya kristal es pada fase beku, sehingga dibutuhkan pengencer yang mempunyai sifat krioprotektan baik ekstraseluler maupun intraseluler.

Pemberian agen protektif tersebut diharapkan dapat melindungi membran plasma dan isi sel secara keseluruhan dari kerusakan fisik dan

fungsional pada saat dan selama proses pembekuan semen. Hal yang perlu diperhatikan pada proses pengenceran semen adalah waktu *gliserolisasi* yaitu waktu yang diperlukan gliserol untuk menyesuaikan diri dengan pengencer karena titik kritis keberhasilan pembekuan semen ditentukan pada proses ini. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu *gliserolisasi* terhadap keberhasilan pembekuan semen.

## MATERI DAN METODE

### Lokasi penelitian

Penelitian ini dilakukan di Balai Inseminasi Buatan Daerah Ungaran. Pengumpulan data dilakukan pada bulan Maret – Juni 2015.

### Materi penelitian

Materi yang digunakan pada penelitian adalah kualitas semen segar dari 4 ekor sapi Simmental (Classic, Charge, Mars dan Champion) yang ditampung sebanyak 8 kali.

### Metode penelitian

Pengambilan sampel dilakukan secara sengaja (*purposive sampling*). Pengencer yang digunakan dalam penelitian adalah skim kuning telur. Metode pembekuan semen dimulai dari *pre freezing* yaitu straw yang telah diisi semen dilekatkan di permukaan nitrogen cair  $\pm 4$  cm pada suhu  $-110^{\circ}\text{C}$  s/d  $-120^{\circ}\text{C}$  selama 9 menit. Proses selanjutnya yaitu pembekuan semen dengan cara memasukkan straw kedalam nitrogen cair pada suhu  $-196^{\circ}\text{C}$ .

### Variabel pengamatan

Variabel yang diamati dalam penelitian ini antara lain:

1. Volume semen yang ditampung dapat langsung pada skala tabung penampung (Fias *et al*, 2010).

2. pH semen diukur dengan cara meneteskan semen pada kertas lakmus sebanyak satu tetes (Susilawati, 2011).
3. Konsentrasi semen segar dilihat menggunakan *spektrophotometer* dengan cara mengambil semen sebanyak 2 ml yang dicampur dengan NaCl 0,9% (Birgit *et al*, 2004).
4. Total persentase motilitas semen diperoleh dengan cara mengalikan konsentrasi spermatozoa dengan spermatozoa yang motil progresif dalam semen cair (Nikbakht and Saharkhiz, 2011).
5. Produksi semen beku (total produksi straw) yang dihasilkan sesuai syarat SNI semen beku yaitu jumlah sel spermatozoa minimal 25 juta pada *ministraw* 0,25 ml (SNI, 2008).
6. Motilitas pasca *thawing* (*post thawing motility*) yang biasa disingkat PTM merupakan persentase motilitas spermatozoa yang diamati setelah dilakukan *thawing* (Hafez, 2008).

### Analisis data

Data dianalisis menggunakan uji *t* (*t test*) yang terdiri dari 2 perlakuan (P0 = waktu *gliserolisasi* > 3 jam dan (P1 = waktu *gliserolisasi* 15 menit) serta menggunakan 4 ulangan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kualitas semen sebelum perlakuan

Semen beku yang digunakan untuk IB harus memiliki kualitas yang baik sehingga harus memperhatikan kondisi ketika semen dalam keadaan segar dan kondisi semen setelah pengenceran. Kualitas semen segar dari 4 ekor sapi yang meliputi volume, pH, dan konsentrasi semen masih dalam kisaran normal dan memenuhi standart untuk dilakukan pembekuan.

Volume rata-rata semen segar adalah 4,3-9,2 ml, sedangkan volume semen yang dapat dibekukan rata-rata berkisar 4,10–8,75 ml (Sumeidiana dkk, 2007). Rata-rata pH semen segar sapi Simmental adalah 6,45-6,57 sehingga pH semen Simmental bisa dikatakan normal karena salah satu syarat semen dapat diproses lebih lanjut adalah memiliki derajat keasaman 6,28-7,00 (Wahyuningsih, 2013). Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa konsentrasi semen adalah 1223,7-1961,8, sedangkan motilitas individu dan gerak masa semen sapi Simmental adalah 70% dan 2+ sehingga layak dibekukan.

#### **Pengaruh lama gliserolisasi terhadap motilitas spermatozoa pasca thawing (PTM)**

Pembekuan semen diawali dengan *pre freezing* terlebih dahulu

yaitu sebelum *straw* disimpan didalam N<sub>2</sub> cair, *straw* diletakkan terlebih dahulu diatas uap N<sub>2</sub> cair (2-3 cm). Febriani dan Melia (2014) menyatakan bahwa *pre freezing* dilakukan dengan cara meletakkan *straw* diatas kotak *styrofoam* yang berisi N<sub>2</sub> cair selama 14 menit. Namun sebelum dilakukan *pre freezing* perlu dilakukan uji motilitas setelah pengenceran atau disebut *before freezing*.

Motilitas *before freezing* adalah motilitas individu setelah dilakukan pengenceran. Motilitas *before freezing* harus memiliki syarat minimal 55% agar dapat diproses menjadi semen beku sesuai standart BIBD. Hasil rata-rata motilitas *before freezing* dengan waktu *gliserolisasi* yang berbeda ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Motilitas *before freezing* dengan perlakuan *gliserolisasi* >3 jam dan 15 menit pada 8 kali penampungan

Nama sapi	<i>Before freezing</i> (%)	
	>3 jam	15 menit
Classic	50	54,8
Charge	47,5	51,25
Mars	35,63	53,13
Champion	35,63	51,25
Rata-rata± SD	42±0,076	52,61±0,017

Hasil pengamatan motilitas pasca *thawing* (*post thawing motility*) ditunjukkan pada Tabel 2. Rata-rata persentase motilitas individu setelah pembekuan >3 jam adalah 11%±0,11. Se-

dangkan pada perlakuan *gliserolisasi* 15 menit selama 8 kali penampungan menunjukkan hasil yang lebih baik dimana PTM rata-rata yang diperoleh yaitu 30%±0,06.

Tabel 2. Pengaruh lama *gliserolisasi* terhadap motilitas *pasca thawing*

Nama sapi	<i>Post thawing totility</i>	
	>3 jam (%)	15 menit(%)
Classic	25	35
Charge	15	24,37
Mars	5	35
Champion	0	25,62
Rata-rata±SD	11±0,11	30±0,06

Hasil penelitian ini tidak sesuai dengan penelitian Yusuf, dkk (2006) yang menyatakan bahwa perbedaan lama waktu pemaparan gliserol (*gliserolisasi*) yang berbeda tidak mempengaruhi persentase motilitas spermatozoa pasca *thawing* domba lokal menggunakan pengencer tris kuning telur. Hafez (2008) menambahkan bahwa syarat minimal nilai PTM agar semen dapat digunakan dalam inseminasi buatan adalah 40%. Adapun yang dapat mempengaruhi persentase motilitas pasca *thawing* antara lain kualitas semen segar dan jumlah produksi semen beku. Kualitas semen segar berkaitan dengan kelayakan untuk bisa diproses menjadi semen beku sedangkan produksi straw dapat mempengaruhi persentase rata-rata motilitas pasca *thawing* dimana semakin banyak produksi straw maka persentase rata-rata motilitas pasca *thawing* semakin besar.

Menurut Zelpina dkk (2012), evaluasi motilitas spermatozoa *post thawing* merupakan salah satu parameter yang banyak digunakan

untuk menentukan kualitas semen sapi yang akan digunakan untuk inseminasi buatan. *Thawing* semen merupakan suatu prosedur yang sangat kritis dan memiliki peluang potensial terhadap persentase motilitas. Bila *thawing* dilakukan pada suhu yang tidak tepat akan menimbulkan kerusakan pada spermatozoa. Suhu *thawing* yang tepat sangat diperlukan pada semen beku karena dapat mengurangi efek dari semen beku untuk mencapai suhu yang kritis pada saat *thawing*.

### **Pengaruh lama *gliserolisasi* terhadap produksi semen beku**

Penambahan gliserol pada agen pengencer setelah proses ekuilibrisasi berfungsi agar terhindar dari *cold shock* (Soeparna dan Lis, 2013). Penentuan waktu yang tepat untuk pemaparan gliserol adalah hal yang penting dan berpengaruh pada keberhasilan pembekuan semen. Hasil penelitian tentang pengaruh lama *gliserolisasi* terhadap produksi semen beku (*straw*) ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh lama *gliserolisasi* terhadap produksi semen beku (*straw*)

Sapi Simmental	P0 (>3 jam)	P1 (15 menit)
Classic	1183 <sup>a</sup>	3058 <sup>a</sup>
Charge	965 <sup>a</sup>	2079 <sup>b</sup>
Mars	250 <sup>bc</sup>	1656 <sup>c</sup>
Champion	0 <sup>c</sup>	618 <sup>d</sup>
Rata-rata±SD	599,5±526,9	1852,75±526,9

Keterangan: Superscript yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata

Hasil perhitungan analisis uji *t-test* menunjukkan bahwa perlakuan *gliserolisasi* selama 15 menit memberikan pengaruh yang nyata ( $P<0,05$ ) terhadap keberhasilan pembekuan semen. Hal ini dibuktikan dari jumlah dosis semen beku yang dihasilkan. Susilawati (2013) menyatakan bahwa *gliserolisasi* adalah

pemaparan gliserol pada pengencer yang berfungsi melindungi efek lethal selama proses pembekuan. Penambahan gliserol dilakukan beberapa jam sebelum pembekuan agar sel spermatozoa berkesempatan untuk berekuilibrisasi dengan gliserol.

Terkait dengan gagalnya produksi semen beku yang terjadi

karena kurang tepatnya waktu *gliserolisasi*. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh efek toksik dari gliserol akibat terlalu lama bercampur dengan pengencer dan spermatozoa (waktu *gliserolisasi* yang lama) sehingga spermatozoa banyak yang mati dan tidak memenuhi syarat untuk dibekukan. Waktu kontak gliserol dengan pengencer dan spermatozoa selama 15 menit dapat menunjukkan efek perlindungan yang lebih baik jika dibandingkan dengan lama *gliserolisasi* >3 jam dimana bisa dibuktikan dari jumlah produksi straw yang dihasilkan.

Disisi lain terdapat beberapa faktor lain yang dapat mempengaruhi produksi semen beku. Nyuwita, dkk (2015) menyatakan bahwa faktor yang dapat mempengaruhi jumlah semen beku yang dihasilkan oleh seekor sapi adalah kuantitas semen segar yang dihasilkan, jumlah spermatozoa motil, proses pengenceran dan proses pembekuan. Pada beberapa kondisi, umur adalah faktor *internal* yang mempengaruhi tinggi rendahnya produksi semen beku yang dihasilkan, semakin tua umur sapi maka kualitas semen segar yang dihasilkan semakin rendah sehingga semen yang dapat dibekukan semakin rendah pula.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Perlakuan lama *gliserolisasi* pada individu sapi Simmental dengan waktu 15 menit menghasilkan produksi semen beku lebih tinggi bila dibandingkan dengan perlakuan >3 jam. Sedangkan waktu *gliserolisasi* selama 15 menit dapat menghasilkan rata-rata persentase motilitas pasca *thawing* 35%.

### Saran

Proses *gliserolisasi* lebih baik dilakukan selama 15 menit serta perlu

penelitian lebih lanjut untuk mengkaji perbedaan produksi semen beku pada berbagai bangsa sapi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Balai Inseminasi Buatan Ungaran yang telah memberikan fasilitas untuk menunjang penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Birgit, F. W., Hermann, S., Christa, P., and Johann, S. 2004. Environmental and age effects on the semen semen quality of Austrian Simmental bulls. 55th annual meeting of the European association for animal production bled, Slovenia: 1-13.
- Febriani, G. Hamdan dan Melia, J. 2014. Pengaruh waktu ekuilibrasi terhadap kualitas semen kerbau lumpur (bubalus bubalis) setelah thawing. Jurnal Medika Veterinaria. 8(1): 1-4.
- Fias, M., Usmani, R. H., Abdullah, M. and Ahmad, T. 2010. Evaluation of semen quality of Holstein Friesian and Jersey bulls maintained under subtropical environment. Pak Vet J. 30(2): 75-78.
- Hastuti, D. 2008. Tingkat keberhasilan inseminasi buatan sapi potong di tinjau dari angka konsepsi dan service per conception. Jurnal Ilmu Pertanian. 4(1): 12-20.
- Hafez, E. S. E. 2008. Artificial insemination. In reproduction in farm animals. E. S. E. Hafez (editor) 7th Edition. Lea and Febiger: 376 – 390.
- Nikbakht, R and Saharkhiz, N. 2011. The influence of sperm morphology, total motile sperm count of semen and the number of motile sperm inseminated in sperm samples on the success of

- intrauterine insemination. *International Journal of Fertility and Sterility*. 5(3): 168-173.
- Nyuwita, A., Trinil, S dan Isnaini, N. 2015. Kualitas semen dan produksi semen beku sapi Simmental pada umur yang berbeda. *J. Ternak Tropika*. 16(1): 61-68.
- SNI. 2008. Semen beku bagian 1. SNI 4869.1:2008. Badan Standarisasi Nasional.
- Soeparna dan Lis, A. 2013. Fisiologi reproduksi dan inseminasi buatan pada kuda. IPB Press. Bogor.
- Sumeidiana, I., Wuwuh, S dan Mawarti, E. 2007. Volume semen dan konsentrasi sapi Simmental, Limousin dan Brahman di Balai Inseminasi Buatan Ungaran. *Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro. J. Indon. Trop. Anim. Agric.* 32 (1): 131-137.
- Susilawati, T. 2011. *Spermatology*. UB press. Malang.
- Susilawati, T. 2013. *Pedoman inseminasi buatan pada ternak*. UB press. Malang.
- Wahyuningsih, A. 2013. Pengaruh umur pejantan dan frekuensi penampungan terhadap volume dan motilitas semen segar sapi Simmental di Balai Inseminasi Buatan Lembang. *Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto. Jurnal Ilmiah Peternakan* 1(3): 947-953.
- Yusuf, T. L., Arifiantiani, R. I dan Mulyadi, Y. 2006. Efektivitas waktu pemaparan gliserol terhadap motilitas spermatozoa pada pembekuan semen domba lokal menggunakan pengencer tris kuning telur. *J. Animal Production*. 8 (3): 168-173.
- Zelpina. E., Bayu, R dan Teguh, S. 2012. Kualitas spermatozoa post thawing dari semen beku sapi perah. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 15(2). 95-102.